

Determinación de patógenos asociados a leches crudas en empresas ganaderas doble propósito en Córdoba, Colombia

Determination of pathogens associated with raw milk in double purpose livestock enterprises in Córdoba, Colombia

Yira Cogollo-Cordero¹, Virginia Rodríguez-Rodríguez² y Alfonso Calderón-Rangel³

RESUMEN

La leche es el alimento más completo por su variada composición química, pero existe un riesgo para la salud pública por la proliferación de patógenos. El objetivo fue determinar la prevalencia de patógenos mediante aislamientos por cultivo microbiológico y confirmación por PCR, en muestras de leches crudas en máxima y mínima precipitación. En 144 empresas ganaderas doble propósito de Córdoba se aisló *S. aureus* en el 100% en máxima y mínima precipitación. Una cepa de *B. abortus* fue aislada en máxima precipitación. En el 2,1% y en el 1,4% en máxima y mínima precipitación respectivamente se aisló *Salmonella* spp. No se aisló *Listeria* spp., *Campylobacter* spp. y *E. coli* O:157H:7. La detección de estos patógenos en leche cruda es un riesgo para la salud pública.

Palabras clave: aislamientos, microorganismos, salud pública, zoonosis.

ABSTRACT

Milk is considered the most complete food for its varied chemical composition but there is a risk to public health by the proliferation of pathogenic microorganisms. The objective was to determine the prevalence of pathogens in raw milk samples maximum and minimum precipitation through conventional techniques of microbiology. Using a descriptive study, slitting was established as sample size 144 dual purpose livestock enterprises in Córdoba. *S. aureus* was isolated in 100% in periods of maximum and minimum precipitation. A strain of *B. abortus* was isolated in maximum precipitation. A *Salmonella* spp strain was isolated in 2.1% and 1.4% in maximum and minimum precipitation respectively. *Listeria* spp., *Campylobacter* spp. and *E. coli* O:157H:7 were not isolated. The detection of these pathogens in raw milk is a risk to public health.

Key words: isolations, microorganisms, public health, zoonosis.

Introducción

La leche es un producto de origen biológico rico en hidratos de carbono, grasas, proteínas, minerales, vitaminas, oligoelementos y por poseer un pH óptimo (cerca a la neutralidad), constituye un medio óptimo para la multiplicación de las bacterias contaminantes; aunque se tome asépticamente y de un animal sano, siempre tiene muy bajo contenido de bacterias (Araya *et al.*, 2008). Una deficiente infraestructura de la red de frío, el uso inadecuado de recipientes para almacenar leche, largas distancias en las rutas y altas temperaturas ambientales favorecen el crecimiento bacteriano en sistemas de doble propósito (Calderón *et al.*, 2006). También puede ser una fuente importante de microorganismo patógenos, incluyendo aquellos adquiridos por contaminación primaria (Araya *et al.*, 2008). En la leche se pueden encontrar microorganismos patógenos que provienen de infecciones sistémicas, infecciones de la glándula mamaria (Radostits *et al.*, 2002), del exterior de

la ubre o contaminación en los procesos de recolección, almacenamiento y transporte (Márquez *et al.*, 2007).

Existen microorganismos que pueden ser un riesgo para la salud pública y se constituyen en barreras para el comercio internacional, como son *S. aureus*, *Brucella* spp., *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 y *Campylobacter* spp. que no están contempladas en el sistema de vigilancia en la producción primaria en Colombia (Patiño, 2012). El objetivo general fue determinar la prevalencia de microorganismos patógenos en leches crudas a nivel de fincas doble propósito que proveen centros de acopio en el departamento de Córdoba.

Materiales y métodos

Mediante un estudio descriptivo de corte longitudinal se estableció como tamaño de la muestra 144 empresas ganaderas bajo el sistema doble propósito en el departamento

¹ Programa de Maestría en Ciencias Agroalimentarias, Universidad de Córdoba. Montería (Colombia).

² GIMBIC, Facultad Ciencias de la Salud, Programa Bacteriología, Universidad de Córdoba. Montería (Colombia).

³ IIBT, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Córdoba. Montería (Colombia). acalderonr@correo.unicordoba.edu.co

de Córdoba, estimando una prevalencia del 10%, una confiabilidad del 95% y una amplitud de intervalo del 0,1.

Durante un año se realizaron dos muestreos en época de máxima y mínima precipitación. La toma de las muestras de leche, se hizo conforme a lo establecidos (FIL-IDF 50C-1995) y fueron depositadas en recipientes estériles y conservadas en refrigeración a 4°C, hasta su transporte al Laboratorio de Bacteriología, de la Facultad de Ciencias Salud en la Universidad de Córdoba. Las muestras fueron procesadas en menos de 8 h después de su recolección.

El aislamiento de *S. aureus*, *Salmonella* spp y *L. monocytogenes* se realizó de acuerdo al protocolo del Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (Invima, 1998) y para el aislamiento de *E. coli* O157: H7 el protocolo propuesto (AOAC, 2016). La confirmación del *S. aureus*, se hizo mediante la determinación del gen *nuc*, el cual permite la identificación molecular usando los iniciadores propuestos por Brakstad *et al.* (1992). El aislamiento de *Brucella* spp se hizo en agar selectivo para *Brucella* (Agar Soya Trypticase) enriquecido y suplemento de Oxoid con suero de caballo al 5%, e incubadas en microaerofilia a 37°C por 5 a 10 d. Para *Campylobacter* e centrifugo la leche, la grasa y el sobrenadante se descartaron y el pellet se resuspendió en caldo Preston con y sin sangre lisada de caballo, y suplementado con SR117 de Oxoid, e incubado a 42±1°C por 48 h, en microaerofilia, después de la incubación se tomaron 500 uL del caldo de enriquecimiento y se sembraron placas en agar Preston en condiciones de microaerofilia por 48 h.

Los valores obtenidos se analizaron a través de métodos descriptivos, estimando el promedio de cada variable y el promedio general. Todos los valores obtenidos se procesaron mediante el paquete estadístico SAS versión 8. Como controles de los procedimientos de bacteriología convencional se usaron cepas de *S. aureus* aisladas de estudios previos, *Salmonella* entérica subsp. entérico serotipo thyphimurium (ATCC 14028), *L. monocytogenes* (ATCC 19115) y *Brucella abortus* cepa vacunal, *Campylobacter jejuni* (ATCC 29428).

Resultados y discusión

De las 144 empresas ganaderas doble propósito evaluadas en el departamento de Córdoba, mediante cultivo bacteriológico en muestras de leche cruda, se aisló en el 100% de ellas *S. aureus* durante las dos épocas de evaluación. Estos resultados relacionan la facilidad que tiene el *S. aureus* para encontrarse en leche cruda ya que es un microorganismo ubicuo en la naturaleza (Elmoslemany *et al.*, 2009). En la

figura 1, se demuestra la determinación del gen *nuc*, que confirmó que los aislamientos fueron *S. aureus*.

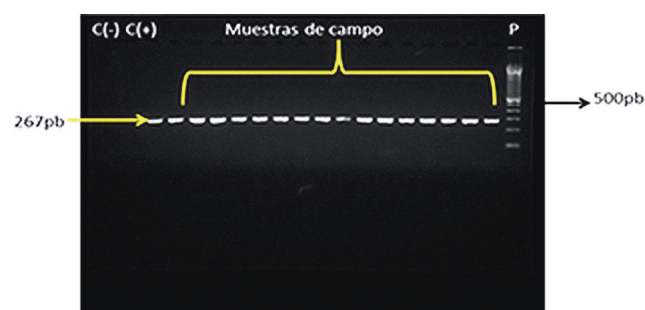


FIGURA 1. PCR para la detección del gen *nuc* (267 pb) de *S. aureus*. P: marcador de peso molecular (100 pb Promega), control negativo (C-), control positivo (C+), muestras de campo positivas para el gen *nuc*.

Una cepa de *B. abortus* fue aislada en máxima precipitación y sólo el 48,61% de estas empresas están dentro del programa de control de esta zoonosis; esta cepa se confirmó por PCR. En Córdoba. Se han reportado seroprevalencias a brucelosis bovina del 3,71% en bovinos y del 12,7% en predios (Tique *et al.*, 2009). Las Buenas Practicas Ganaderas (BPG) en Colombia están implementadas para la producción de leche (MinProtección, 2006; Resolución 3585 del 2008), donde todas las empresas ganaderas deben contar con un plan sanitario documentado, que incluya la prevención, diagnóstico y manejo de enfermedades de control oficial como Fiebre Aftosa, Brucelosis, Rabia, Tuberculosis. A pesar de esta normatividad, en Córdoba, este resultado, refleja un bajo cumplimiento de esta normatividad.

En el 2,1% (3/144) y en el 1,4% (2/144) en máxima y mínima precipitación se detectó *Salmonella* spp, que se confirmaron por PCR; el estar detectando *Salmonella* spp en leches crudas da una alarma de las posibles implicaciones en salud pública, no solo por el consumo de leche cruda sino por la utilización de esta en la elaboración de otros derivados lácteos, donde está demostrado claramente su impacto (Espinal *et al.*, 2006; Acosta *et al.*, 2013).

No se aisló *Listeria* spp., *Campylobacter* spp. y *E. coli* O:157H:7 en ninguna de las épocas; estos resultados pueden estar relacionados con las dificultades propias del aislamiento de estos dos microorganismos. Los países en desarrollo no cuentan con programas nacionales de vigilancia de la campilobacteriosis y la *E. coli* O157:H7, la mayoría de las estimaciones de la incidencia son realizadas por laboratorios donde la vigilancia se basa en los patógenos responsables de la diarrea, por lo que se hace necesario continuar con la vigilancia epidemiológica de estos patógenos en leche cruda durante períodos más largos de tiempo, y

aumentar el número de muestreos en épocas de máxima y mínima precipitación.

Conclusiones

Se determinaron patógenos como *S. aureus*, *Salmonella* spp. *B. abortus*, por métodos convencionales de microbiología y se hace necesario implantar políticas de control a nivel del sector primario de la producción para garantizar la inocuidad de la leche.

Literatura citada

- Acosta, L., J. Pinedo y E. Hernández. 2013. Comparación de los métodos de inmunoensayo enzimático automatizado (VIDAS) y PCR para la detección de *Salmonella* spp. en expendios de la ciudad de Santa Marta-Colombia. Rev. Salud Uninorte 29(2), 2-6.
- Araya, V., L. Gallo, C. Quesada, C. Chaves y M.L. Arias. 2008. Evaluación bacteriológica de la leche y queso de cabra distribuidos en el área metropolitana de San José, Costa Rica. ALAN 58(2), 182-186.
- AOAC. 2016. Official methods of analysis of AOAC International. 20th ed. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD.
- Brakstad, O., H.H.K. Aabbakk y L. Naeland. 1992. Detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction amplification of the *nuc* gene. J. Clin. Microbiol. 30(7), 1654-1660.
- Calderón, A., F. García y G. Martínez. 2006. Indicadores de calidad de leches crudas en diferentes regiones de Colombia. Rev. MVZ Córdoba 11(1) 725-737.
- Elmoslemany, A., G. Keefe e I. Dohoo. 2009. Risk factors for bacteriological quality of bulk tank milk in Prince Edward Island dairy herds. Part 2: Bacteria count-specific risk factors. J. Dairy Sci. 92(6):2644-52. Doi: 10.3168/jds.2008-1813
- Espinal, P.M., E. Prieto. V. Otero y V.S. Máttar. 2006. Presencia del gen de invasividad *invA* en cepas de *Salmonella* spp aisladas de alimentos del Caribe colombiano. Rev. Cubana Salud Pub. 32(2), 115-120.
- FIL/IDF. 1995. Milk and milk products – Guidance on sampling. FIL/IDF Standard 50C. International Dairy Federation, Bruselas.
- ICA. 2008. Resolución 3585 del 20 de Octubre de 2008. Por la cual se establece el sistema de inspección, evaluación y certificación de la producción primaria de leche, de conformidad con lo dispuesto en el Capítulo II del título I del decreto 616 de 2006. Instituto Colombiano Agropecuario, Bogotá.
- Invima. 1998. Manual de técnicas de análisis para control de calidad microbiológico de alimentos para consumo humano. P. 17-19, 36-38. Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, Bogotá.
- Márquez, G.C., C.K. Piramanrique., C.A.K. Carrascal, D.B. Clavijo y B. Quevedo. 2007. Determinación cuantitativa de proteasas de bacterias psicrotróficas aisladas de leche cruda. NOVA 5(7), 14-24.
- MinProtección. 2006. Decreto número 616 del 28 de Febrero del 2006. Por el cual se expide el Reglamento Técnico sobre los requisitos que debe cumplir la leche para el consumo humano que se obtenga, procese, envase, transporte, comercializa, expendia, importe o exporte en el país. Ministerio de la Protección Social, Bogotá.
- Patiño, R. 2012. Detección de *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7 y *Listeria monocytogenes*, en muestras de leche bovina del sistema de producción doble propósito colombiano. 2012; Tesis de maestría. Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá.
- Radostits, O., C.C. Gay, D. Blood y K. Hinchcliff. 2002. Medicina veterinaria, Tratado de las enfermedades del ganado bovino, vino, porcino caprino y equino. McGraw-Hill Interamericana, Madrid. pp. 711-829.
- SAS. 2001. SAS/STAT User's Guide (Release 9.1). Statistical Analysis System Institute, Cary, NC.
- Tique, V., M. González., S. Mattar. 2009. Seroprevalencia de *Brucella abortus* en bovinos del departamento de Córdoba. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 12(2), 51-59.